

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-075830

(43)Date of publication of application : 23.03.1999

(51)Int.Cl.	C12N	1/20
	A23G	3/00
	A23L	1/06
	A23L	2/02
	A23L	2/38
	/(C12N	1/20
	C12R	1:01)

(21)Application number : 09-268206 (71)Applicant : SNOW BRAND MILK PROD
CO LTD(22)Date of filing : 16.09.1997 (72)Inventor : AOYAMA KENJI
SHIROTA YUKIKO
HASHIBA EN

(54) NEW BIFIDOBACTERIUM AND ITS UTILIZATION

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain new Bifidobacterium longum having a survival rate of not less than a prescribed value when being suspended in a prescribed citrate buffer solution and maintained under a specific condition, having high acid resistance, useful for preparation of a food and drink or the like containing a natural fruit juice.

SOLUTION: This new Bifidobacterium has $\geq 5\%$ survival rate when the bacterium is suspended in 0.3 M citrate buffer (pH: 4.0) or 0.3 M malate buffer (pH: 4.0) and maintained at 10° C for 4 days, and the strain thereof is Bifidobacterium longum SBT 10519 (FERM P-16107). The Bifidobacterium longum SBT 10519 has following mycological properties: largeness: 0.3-0.8 . μ × 4-10 . μ ; form: bacillus showing polymorphism; Gram staining: positive; sporulation: negative; gas formation: non; motility: non; catalase activity: negative; skimmed milk coagulation property: coagulation; liquefaction of gelatin: non; reduction of nitrate: non; production of indole: non; molar ratio of acetic acid/L(+)lactic acid: ≥ 1.5 .

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 30.04.1999

[Date of sending the examiner's decision of rejection] 04.06.2002

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted]

registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection] 2002-12042

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection] 01.07.2002

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-75830

(43) 公開日 平成11年(1999) 3月23日

(51) Int.Cl. ⁹	識別記号	F I	
C 1 2 N 1/20		C 1 2 N 1/20	A
			C
A 2 3 G 3/00		A 2 3 G 3/00	
A 2 3 L 1/06		A 2 3 L 1/06	
2/02		2/02	B
審査請求 未請求 請求項の数 3 F D (全 8 頁) 最終頁に続く			
(21) 出願番号	特願平9-268206	(71) 出願人	000006699 雪印乳業株式会社 北海道札幌市東区苗穂町6丁目1番1号
(22) 出願日	平成9年(1997) 9月16日	(72) 発明者	青山 顯司 埼玉県狭山市東三ツ木183-4 シャトレ -新狭山201号
		(72) 発明者	城田 由紀子 埼玉県与野市鈴谷3-11-41
		(72) 発明者	橋場 炎 埼玉県川越市南台2-11-8 ハイマート 南大塚A304号
		(74) 代理人	弁理士 児玉 喜博

(54) 【発明の名称】 新規ビフィズス菌及びその利用

(57) 【要約】

【課題】 酸性条件下での保存の容易な新規ビフィズス菌及びそれを用いた飲食品の提供

【解決手段】 菌体を0.3Mクエン酸緩衝液(pH 4.0)に懸濁し、10℃で4日間保持したときの生残率が5%以上で、且つ、0.3Mリンゴ酸緩衝液(pH 4.0)に懸濁し、10℃で4日間保持したときの生残率が5%以上であるビフィドバクテリウム・ロンガム(Bifidobacterium longum)

【特許請求の範囲】

【請求項1】 次のいずれかの性質を有するビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)。

(1) 菌体を0.3Mクエン酸緩衝液(pH 4.0)に懸濁し、10℃で4日間保持したときの生残率が5%以上である。

(2) 菌体を0.3Mリンゴ酸緩衝液(pH 4.0)に懸濁し、10℃で4日間保持したときの生残率が5%以上である。

【請求項2】 菌株が、ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107)である請求項1に記載のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)。

【請求項3】 少なくとも請求項1又は2に記載のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) 菌体及び天然果汁を含有する飲食品。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、耐酸性を有する新規なビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)に関する。また、本発明は、少なくとも、この耐酸性を有する新規なビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) 菌株及び天然果汁を含有する飲食品に関する。

【0002】

【従来の技術】ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)等のビフィズス菌は、ヒトの腸管内で形成される腸内菌叢の優勢菌種の一つであって、その摂取により整腸作用を有することが知られている。近年、生活者の健康志向の高まりと共に、ビフィズス菌を含む食品への需要も高まっており、発酵乳や乳酸菌飲料等に広くビフィズス菌が利用されている。また、血中コレステロール低下作用、抗腫瘍活性、免疫賦活作用、抗変異原性等、ビフィズス菌の有する生理作用についても、種々報告がなされており、各種健康食品への利用が試みられている。このように、腸内菌叢の維持や改善等、ビフィズス菌の効果が期待されているが、このような効果をビフィズス菌に発揮させるためには、ビフィズス菌を継続的に摂取することが必要とされている。しかし、ビフィズス菌は、酸性条件下や酸素存在下での保存が難しく、現状では、発酵乳や錠剤等の限られたビフィズス菌含有製品が知られるのみであり、また、これらの市場で流通しているビフィズス菌含有飲食品も、光や空気を遮断してビフィズス菌の生菌数を維持したり、低pH耐性の高いビフィズス菌を選択して使用する必要に迫られている。

【0003】したがって、ビフィズス菌を含有する飲食品を開発するに際しては、製造後の流通及び消費の過程で、如何に一定以上の生菌数を維持できるかが技術課題となっている。一方、天然果汁は、健康的な自然食品として、近年、需要が急速に伸長してきた素材であり、日常の食生活の中で、天然果汁飲料として摂取されるよう

になってきている。また、天然果汁を含むゼリーや生菓子等の製品も販売されており、その消費も増加している現状にある。このような現状から、ビフィズス菌を含有する飲食品のバラエティー化の一つとして、天然果汁とビフィズス菌を組み合わせた飲食品の開発が望まれている。しかし、天然果汁は、一般的にpHが4以下と低く、ビフィズス菌が生残するには過酷な条件であり、ビフィズス菌を配合した天然果汁含有飲食品を提供することは非常に困難であった。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明者らは、ビフィズス菌を配合した天然果汁を含有する飲食品を開発する目的で、天然果汁中においても生残することができる耐酸性の高いビフィズス菌を求めて、鋭意研究を進めていたところ、通常のビフィズス菌含有飲食品に使用されているビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)を育種改良して耐酸性を賦与することにより、天然果汁中でも生残することができる耐酸性の高いビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)を得ることができることを見出し、さらに、この耐酸性の高いビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)を飲料、ゼリー、生菓子等の飲食品に配合することができることを見出し、本発明を完成するに至った。したがって、本発明は、天然果汁中でも生残することができる耐酸性の高いビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)を提供することを課題とした。また、本発明は、この耐酸性の高いビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)を含む飲料、ゼリー、生菓子等の天然果汁含有飲食品を提供することを課題とする。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明では、天然果汁中においても生残性を有する耐酸性の高いビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)を取得するために、ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 2928 (FERM P-10657)の育種改良を行った。なお、ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 2928 (FERM P-10657)は、発酵乳用スターターとして利用されている菌株であり、この菌体自体やこの菌体が産生する物質に種々の生理的機能が存在することが知られている(特開平3-120222号公報、特開平8-99888号公報、特開平8-259597号公報)。

【0006】以下に育種改良の方法を示す。

(1) ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 2928 (FERM P-10657)をBriggs liver broth(光岡知足著、腸内菌の世界、p319、叢分社発行、1980)に接種し、培養した後、遠心分離して菌体を回収し、生理食塩水で洗浄する。

(2) 100%バレンシアオレンジ果汁(pH 3.9)に菌体を

懸濁し、低温で1週間保存する。

(3) 菌体を懸濁した果汁を遠心分離して上清を除去し、生理食塩水で2回洗浄する。

(4) 回収した菌体及び果汁固形を Briggs liver broth に懸濁し、培養する。

(5) 培養物を新しい Briggs liver broth に接種し、培養する。

(6) (1)～(5)の操作を30回繰り返す。

(7) 培養菌液から鈎菌し、BL寒天培地(日水製薬製)上で純化を行って菌株を選択した後、培養し、保存する。

(8) 取得した菌株のそれぞれについて、(1)及び(2)の操作を行い、100%バレンシアオレンジ果汁中の生残率を求める。

生残率(%) = { (保存後の生菌数) / (保存前の生菌数) } × 100

なお、生菌数は、BL寒天培地(日水製薬製)で培養して形成されたコロニー数を測定することにより求めた。

(9) 生残率の最も高い菌株をビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107)として取得する。

【0007】本発明の耐酸性を有するビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107)の菌学的性質を以下に示す。

(1) 菌形(BL寒天培地で37℃、72時間嫌気培養したときの光学顕微鏡観察時)

大きさ: 0.3～0.8 μm × 4～10 μm

形 状: 多形性を示す桿菌(こん棒状、Y字状等)

(2) グラム染色性: 陽性

(3) コロニー形態

形 状: 円形

隆 起: 半球状に隆起

周 縁: 円滑

大きさ: 1～4 mm

色 調: 黄褐色

表 面: 円滑

(4) 芽胞形成: 陰性

(5) ガス生成: なし

【0008】(6) 運動性: なし

(7) カタラーゼ活性: 陰性

(8) 脱脂乳凝固性: 凝固

(9) ゼラチン液化性: なし

(10) 硝酸塩還元性: なし

(11) インドール産生: なし

(12) 硫化水素産生: なし

(13) 酢酸/L(+)乳酸モル比: 1.5以上

(14) 酢酸生成: あり

(15) 糖の発酵性

【0009】光岡の方法(光岡知足, 臨床検査, vol.1 8, pp.1163-1172, 1974)に従って実施した。(+: 発

酵性あり、-: 発酵性なし)

1. アラビノース	+
2. キシロース	+
3. リボース	+
4. グルコース	+
5. マンノース	+
6. フラクトース	+
7. ガラクトース	+
8. シュークロース	+
9. マルトース	+
10. セロビオース	-
11. ラクトース	+
12. トレハロース	-
13. メリビオース	+
14. ラフィノース	+
15. メレチトース	+
16. スターチ	-
17. グリコーゲン	-
18. イヌリン	-
19. マンニット	-
20. ソルビット	-
21. イノシット	-
22. エスクリン	-
23. サリシン	-
24. アミグダリン	-

【0010】(16) DNAを用いた分類

1. 染色体DNAのハイブリダイゼーションによる分類
 ビフィドバクテリウム・インファンティス(*Bifidobacterium infantis*) ATCC15697、ビフィドバクテリウム・アドレセンティス(*Bifidobacterium adolescentis*) ATCC 15703、ビフィドバクテリウム・ブレーベ(*Bifidobacterium breve*) ATCC 15700、ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) ATCC 15707及びビフィドバクテリウム・ビフィダム(*Bifidobacterium bifidum*) ATCC 29521の染色体DNAをそれぞれ抽出し、ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107)から抽出した染色体DNAとのハイブリダイゼーションを行った。また、エシェリヒア・コリ(*Escherichia coli*)の精製DNA(ファルマシアバイオテック社製)とのハイブリダイゼーションを行った。ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107)から抽出した染色体DNAは、ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) ATCC 15707から抽出した染色体DNAと最も強くハイブリダイズした。また、エシェリヒア・コリ(*Escherichia coli*)の染色体DNAに対するハイブリダイゼーションの強度を0とし、ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) ATCC 15707の染色体DNAに対するハイブリダイゼーションの強度を100とした場合、その他のビフィズス菌か

ら抽出した染色体DNAに対するハイブリダイゼーションの強度は50以下であった。

【0011】2. PCR(polymerase chain reaction)による分類

16sリボゾーマルRNAをコードするDNAの配列の違いに基づいてPCR用プローブを作成し、PCRによりビフィズス菌を菌種レベルで分類する方法が知られている(Denis Roy et al., International Journal of Food Microbiology, vol.29, pp.11-29, 1996)。そこで、この方法に従ってビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)用のプローブを作成し、ビフィズス菌の染色体DNAをテンプレートとしたPCRを行ったところ、ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 10519の染色体DNAをテンプレートとした場合に、ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) ATCC 15707の染色体DNAをテンプレートとした場合と同じ大きさのDNA断片(約0.57bp)の増幅が観察された。しかし、その他のビフィズス菌の染色体DNAをテンプレートとした場合には、そのようなDNA断片の増幅は観察されなかった。以上、本発明のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107)は、Bergey's Manual of Systematic Bacteriology) vol.2, 1986の分類基準に示されるビフィドバクテリウム(*Bifidobacterium*)の性質に合致しており、また、DNAを用いた分類によってビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)であると同定された。

【0012】

【発明の実施の形態】本発明の耐酸性を有するビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)は、標準的な性質のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)菌株を100%バレンシアオレンジ果汁(pH 3.9)中で保持し、選択することにより得られるものであり、例えば、バレンシアオレンジ果汁、グレープフルーツ果汁、パイナップル果汁等の天然果汁中において高い生存性を示すので、これらの天然果汁と共に、飲料やゼリー、生菓子等に配合することができる。以下に実施例を示し、本発明をさらに詳細に説明する。

【0013】

【実施例1】ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 2928 (FERM P-10657)をBriggs

liver broth 20mlに接種し、37℃で16時間培養した後、遠心分離により菌体を回収し、生理食塩水で洗浄した。この菌体を100%バレンシアオレンジ果汁飲料(pH 3.9; ドールオレンジジュース 100%; 雪印乳業製) 20mlに懸濁し、10℃で1週間保存した。保存後、菌体を懸濁した果汁を遠心分離して上清を除去し、沈澱物を生理食塩水で2回洗浄した。この沈澱物として回収した菌体及び果汁固形をBriggs liver broth 20mlに懸濁して37℃で培養し、さらに、新しいBriggs liver broth 20mlに培養物を3%接種し、37℃で培養した。そして、これらの操作を30回繰り返した後、培養菌液から釣菌し、BL寒天培地(日水製薬製)上で純化を行って60株を選択し、培養して保存した。さらに、取得した60株について、それぞれ、Briggs liver broth 20mlに接種し、37℃で16時間培養した後、遠心分離により菌体を回収し、生理食塩水で洗浄して100%バレンシアオレンジ果汁飲料(pH 3.9; ドールオレンジジュース 100%; 雪印乳業製) 20mlに懸濁し、10℃で1週間保存した。この60株から生存率の最も高かった株をビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107)として取得した。

【0014】

【試験例1】実施例1で得たビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107)の各有機酸に対する耐性を調べた。また、比較対照として、親株であるビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 2928 (FERM P-10657)及び基準株であるビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) ATCC 15707についても、同様に、各有機酸に対する耐性を調べた。上記したビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)の各菌株をBriggs liver brothで培養した後、菌体を回収し、洗浄した。そして、これらの菌体を0.3Mクエン酸緩衝液(pH 4.0)、0.3Mリンゴ酸緩衝液(pH 4.0)、0.3M乳酸緩衝液(pH 4.0)又は0.3M酢酸緩衝液(pH 4.0)に懸濁し、容器に充填して、10℃で4日間保存した後、各緩衝液中のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*)の生菌数を測定し、生存率を算出した。その結果を表1に示す。

【0015】

【表1】

	クエン酸	リンゴ酸	乳酸	酢酸 (%)
SBT 10519	57	55	7	54
SBT 2928	0.06	0.2	0.6	10
ATCC 15707	0.00003	0.001	0.0004	0.02

これによると、本発明のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT10519 (FERM P-16107)

)は、いずれの有機酸の緩衝液中でも親株のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SB

T2928 (FERM P-10657) や基準株のビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) ATCC15707 に比較してはるかに高い生存率を維持していた。

【0016】

【実施例2】ビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107) を Brigg's liver broth 100ml で培養した後、菌体を回収して洗浄した。そして、この菌体を 100% バレンシアオレンジ果汁飲料 (pH 3.9; ドールオレンジジュース 100%; 雪印乳業製) に懸濁し、容器に充填して、ビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) を含有するバレンシアオレンジ果汁飲料を製造した。また、対照として、親株のビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) SBT 2928 (FERM P-10657) 及び基準株のビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) ATCC 15707 についても、同様にして、ビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) を含有するバレンシアオレンジ果汁飲料を製造した。そして、これらの製造したビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) を含有するバレンシアオレンジ果汁飲料を 10°C で保存し、保存期間中の生菌数の変化を測定した。その結果を図 1 に示す。これによると、基準株のビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) ATCC 15707 は急速に死滅し、保存 2 週間後には生菌数が 1 ml 当たり数個まで減少した。また、親株のビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) SBT 2928 (FERM P-10657) の保存 2 週間後の生菌数は 1 ml 当たり 3.5×10^4 個程度であった。一方、本発明のビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107) は保存 2 週間後でも 1 ml 当たり 2.8×10^7 個 (生残率 2.0%) という高い生菌数を維持していた。なお、本実施例で製造したビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107) を含有するバレンシアオレンジ果汁飲料は、外観、香り、風味共に、通常の 100% バレンシアオレンジ果汁飲料とほぼ変わらないものであった。

【0017】

【実施例3】ビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107) を Brigg's liver broth 100ml で培養した後、菌体を回収して洗浄した。そして、この菌体を 100% グレープフルーツ果汁飲料 (pH 3.8; ドールグレープフルーツジュース 100%; 雪印乳業製) に懸濁し、容器に充填して、ビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) を含有するグレープフルーツ果汁飲料を製造した。また、対照として、親株のビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) SBT 2928 (FERM P-10657) 及び基準株のビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) ATCC 15707 についても、同様にして、ビ

フィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) を含有するグレープフルーツ果汁飲料を製造した。そして、これらの製造したビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) を含有するグレープフルーツ果汁飲料を 10°C で保存し、保存期間中の生菌数の変化を測定した。その結果を図 2 に示す。これによると、基準株のビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) ATCC 15707 及びビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) SBT 2928 (FERM P-10657) は急速に死滅したが、本発明のビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107) は保存 2 週間後でも高い生菌数を維持していた。なお、本実施例で製造したビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107) を含有するグレープフルーツ果汁飲料は、外観、香り、風味共に、通常の 100% グレープフルーツ果汁飲料とほぼ変わらないものであった。

【0018】

【実施例4】ビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107) を Brigg's liver broth 100ml で培養した後、菌体を回収して洗浄した。そして、この菌体を 100% バイナップル果汁飲料 (pH 3.9; ドールバイナップルジュース 100%; 雪印乳業製) に懸濁し、容器に充填して、ビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) を含有するバイナップル果汁飲料を製造した。また、対照として、親株のビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) SBT 2928 (FERM P-10657) 及び基準株のビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) ATCC 15707 についても、同様にして、ビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) を含有するバイナップル果汁飲料を製造した。そして、これらの製造したビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) を含有するバイナップル果汁飲料を 10°C で保存し、保存期間中の生菌数の変化を測定した。その結果を図 3 に示す。これによると、親株のビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) SBT 2928 (FERM P-10657) 及び基準株のビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) ATCC 15707 は急速に死滅したが、本発明のビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107) は保存 2 週間後でも高い生菌数を維持していた。なお、本実施例で製造したビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107) を含有するバイナップル果汁飲料は、外観、香り、風味共に、通常の 100% バイナップル果汁飲料とほぼ変わらないものであった。

【0019】

【実施例5】ビフィドバクテリウム・ロンガム (*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107) を Brigg's

s liver broth 100ml で培養した後、菌体を回収して洗浄した。一方、100%バレンシアオレンジ果汁飲料 (pH 3.9; ドールオレンジジュース 100%; 雪印乳業製) を 40℃まで加温した後、別途、加熱溶解しておいたゼラチンを加え、1%ゼラチンを含む90%バレンシアオレンジ果汁を調製した。そして、このバレンシアオレンジ果汁中に、洗浄したビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107)の菌体を懸濁し、容器に充填して、冷却し、ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) を含有するバレンシアオレンジ果汁ゼリーを製造した。また、対照として、親株のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 2928 (FERM P-10657) 及び基準株のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) ATCC 15707についても、同様にして、ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) を含有するバレンシアオレンジ果汁ゼリーを製造した。そして、これらの製造したビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) を含有するバレンシアオレンジ果汁ゼリーを10℃で保存し、保存期間中の生菌数の変化を測定した。その結果を図4に示す。これによると、親株のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 2928 (FERM P-10657) 及び基準株のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) ATCC 15707は急速に死滅したが、本発明のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107)は保存2週間後でも高い生菌数を維持していた。なお、本実施例で製造したビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107)を含有するバレンシアオレンジ果汁ゼリーは、外観、香り、風味共に、通常のバレンシアオレンジ果汁ゼリーとはほぼ変わらないものであった。

【0020】

【実施例6】ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107)を Brigg's liver broth 100ml で培養した後、菌体を回収して洗浄した。この菌体を牛乳 120mlに懸濁した後、レアチーズケーキミックス (雪印食品製) 75g を添加して混合し、さらに、レモン果汁35mlを添加して混合した。そして、このミックスをケーキ型に流し込み、冷却固化させることにより、ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) を含有するレモン果汁入りレアチーズケーキを製造した。なお、このレモン果汁入りレアチーズケーキのpHは 4.0であった。また、対照として、

親株のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 2928 (FERM P-10657) 及び基準株のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) ATCC 15707についても、同様にして、ビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) を含有するレモン果汁入りレアチーズケーキを製造した。そして、これらの製造したビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) を含有するレモン果汁入りレアチーズケーキを10℃に保存し、保存期間中の生菌数の変化を測定した。その結果を図5に示す。これによると、基準株のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) ATCC 15707は急速に死滅して、保存1週間後には生菌数が1g当たり 3×10^2 個程度まで減少した。また、親株のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 2928 (FERM P-10657) の保存1週間後の生菌数は1g当たり 4×10^5 個程度であった。一方、本発明のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107)は保存1週間後でも1g当たり 9×10^7 個 (生残率 3.6%) という高い生菌数を維持していた。なお、本実施例で製造したビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) SBT 10519 (FERM P-16107)を含有するレモン果汁入りレアチーズケーキは、外観、香り、風味共に、通常のレモン果汁入りレアチーズケーキとはほぼ変わらないものであった。

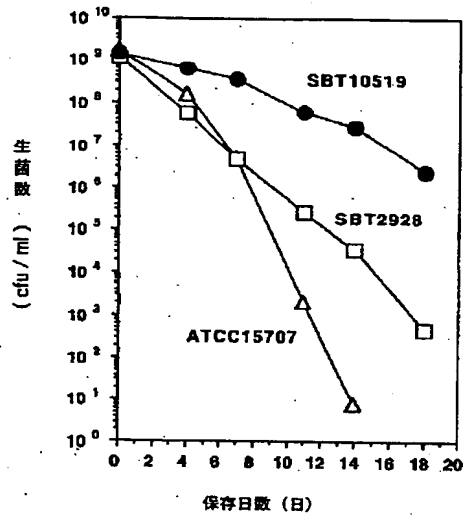
【0021】

【発明の効果】本発明のビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) は、天然果汁中においても生残性を示す高い耐酸性を有する。したがって、このビフィドバクテリウム・ロンガム(*Bifidobacterium longum*) の菌体を天然果汁を含有する飲料やゼリー、生菓子等に配合することができ、生きたビフィズス菌を含有する飲食品のバラエティー化に寄与することができる。

【図面の簡単な説明】

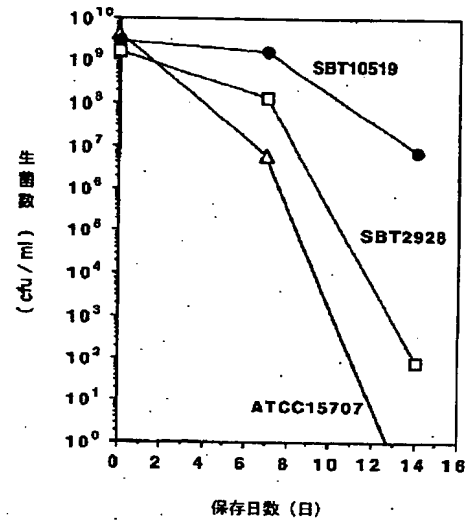
- 図1 ; 10℃のオレンジジュース中でのビフィズス菌の生菌数変化を示す。
- 図2 ; 10℃のグレープフルーツジュース中でのビフィズス菌の生菌数変化を示す。
- 図3 ; 10℃のパイナップルジュース中でのビフィズス菌の生菌数変化を示す。
- 図4 ; 10℃のオレンジゼリー中でのビフィズス菌の生菌数変化を示す。
- 図5 ; 10℃保存のレモン果汁入りレアチーズケーキ中でのビフィズス菌の生菌数変化を示す。

【図1】



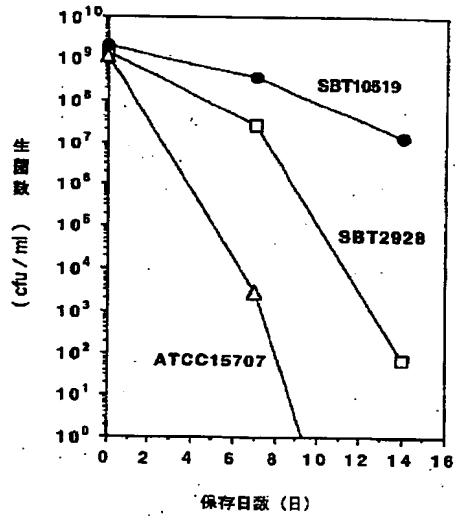
10℃のオレンジジュース中でのビフィズス菌の生菌数変化

【図2】



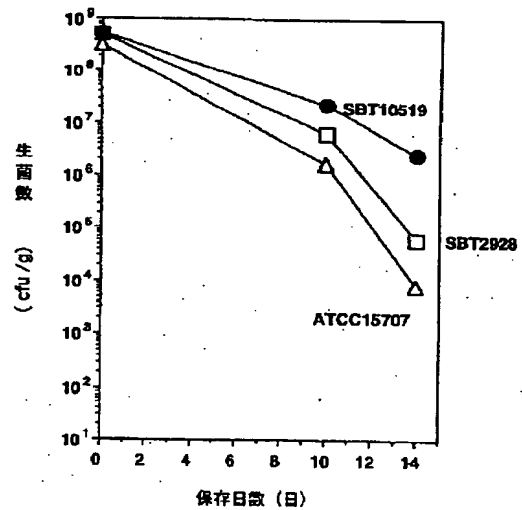
10℃のグレープフルーツジュース中でのビフィズス菌の生菌数変化

【図3】



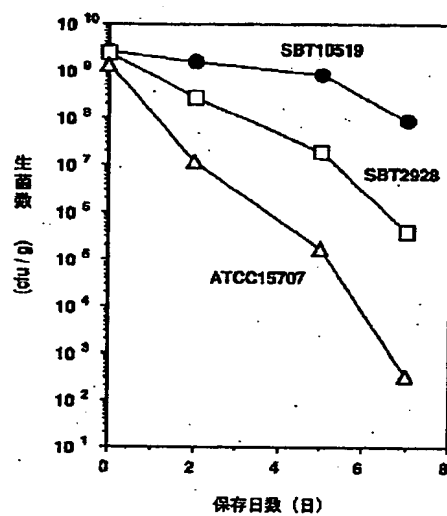
10℃のパイナップルジュース中でのビフィズス菌の生菌数変化

【図4】



10℃のオレンジゼリー中でのビフィズス菌の生菌数変化

【図5】



10℃保存のレモン果汁入りレアチーズケーキ中での
ビフィズス菌の生菌数変化

フロントページの続き

(51)Int. Cl.⁶

A23L 2/02
2/38

/(C12N 1/20
C12R 1:01)

識別記号

FI

A23L 2/02
2/38

Z
G